DOI:10.11931/guihaia.gxzw201801040

# 镉胁迫对紫花苜蓿幼苗生理特性和镉富集的影响

闫志强，陈银萍*，蘧苗苗，余沛东，杨波，柯昀琪

（兰州交通大学 环境与市政工程学院，兰州 730070）

**摘 要**：以“甘农三号”紫花苜蓿幼苗为材料，在水培条件下，探究了在 10 d 内不同浓度（0～2.0 mmol·L$^{-1}$）镉（Cd）胁迫对其根长、茎长、生物量、叶绿素和丙二醛（MDA）含量、超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化物酶（POD）活性、Cd 富集及其亚细胞分布的影响，为阐明植物遭受 Cd 胁迫的毒害机制和 Cd 污染土壤的植物修复提供理论依据。结果表明：低浓度（0.125 mmol·L$^{-1}$）Cd 能促进幼苗根和茎的生长，增加叶片叶绿素含量，较高浓度（0.5~2.0 mmol·L$^{-1}$）Cd 显著抑制幼苗根和茎的生长，叶绿素及生物量显著降低；Cd 胁迫使 MDA 含量显著增加，而 SOD 和 POD 活性显著增强，其中 Cd 胁迫浓度为 0.5 mmol·L$^{-1}$ 时， SOD 和 POD 活性达到最大值，这可能是植物对环境胁迫的一种应激保护反应；Cd 在各亚细胞组分中的含量依次为细胞壁>细胞质>线粒体>叶绿体，且均随 Cd 胁迫浓度的升高而增加。当 Cd 胁迫浓度为 0.125 mmol·L$^{-1}$ 时，水培 10 d 的紫花苜蓿幼苗单株地上部对 Cd 的净化率最高可达 0.214%，而整盆植株在单位体积内对 Cd 的净化率最高可达 15.5%；当 Cd 胁迫浓度为 2.0 mmol·L$^{-1}$ 时，紫花苜蓿幼苗地上部 Cd 含量达 89.36 μg·g$^{-1}$。这些结果表明紫花苜蓿对 Cd 具有很强的富集能力，虽未达 Cd 超富集植物的临界标准，但从植株生物量、耐 Cd 能力、富集 Cd 量及对 Cd 的净化率等方面综合考虑，紫花苜蓿在 Cd 污染土壤的植物修复中具备良好的应用价值。

**关键词**：镉胁迫，紫花苜蓿，生理特性，镉富集，镉污染

中图分类号：Q945　　　　文献标识码：A

# Effects of Cd stress on physiological characteristics of Alfalfa and its Cd uptake

YAN Zhi-Qiang, CHEN Yin-Ping*, QU Miao-Miao, YU Pei-Dong, YANG Bo, KE Yun-Qi

(*School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University,* Lanzhou 730070, China)

**Abstract**: In order to identify the toxic mechanism of plant under Cd stress, provide theoretic foundation for phytoremediation of Cd-contaminated soil, seedlings of alfalfa variety ‘*Medicago sativa* L. cv. Gannong NO.3’ were grown in nutrient solution with the Cd concentration between 0 to 2.0 mmol·L$^{-1}$ for 10 d, the effects of Cd stress on the length of stem and root , biomass, the contents of chlorophyll and malonyldialdehyde (MDA), the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxide enzyme (POD), Cd subcellular distribution in the leaf and Cd uptake in alfalfa seedlings were investigated. The results showed that length of stem and root, chlorophyll content increased under lower Cd concentrations (0.125 mmol·L$^{-1}$) stress. However, lower length of stem and root, biomass and chlorophyll content were observed under the higher Cd concentrations(0.5~2.0 mmol·L$^{-1}$) stress. Accumulation of reactive oxygen species(ROS) in alfalfa seedlings under Cd stress caused membrane lipid system peroxidation, MDA content increased significantly, while the activity of SOD and POD was significantly enhanced, When the concentration of Cd stress was 0.5 mmol·L$^{-1}$, the activity of SOD and POD reached the maximum, which may be a protective reaction of plants to environmental stress, antioxidant enzyme system was started up to remove ROS accumulated during Cd stress and to mitigate membrane lipid peroxidation damage caused by Cd stress. Subcellular distribution of Cd in leaf was in the order of cell wall, cytoplasm, mitochondria, chloroplast, and the content of Cd in each subcellular fraction increased with the increase of Cd stress concentration. When the concentration of Cd was 0.125 mmol·L$^{-1}$, purification rate of Cd in the shoots of individual plants grown in nutrient solution for 10 d up to 0.214%, and the purification rate of Cd for whole pot plant per unit volume up to 15.5%, when the concentration of Cd was 2.0 mmol·L$^{-1}$, the content of Cd in the aboveground part of alfalfa seedlings was 89.36 μg·g$^{-1}$. Those results suggested that alfalfa’s very strong enrichment ability for Cd, although it does not meet the critical criteria for Cd-rich plants. However, alfalfa has a good application value in the phytoremediation of Cd-contaminated soil, considering the plant biomass, Cd tolerance, Cd enrichment, and purification rate of Cd.

**Key words:** Cd stress，Alfalfa，physiological characteristics，Cd uptake，Cd pollution

镉（Cadmium，Cd）以硫镉矿的形式存在自然界中，近年来，随着采矿、电镀、冶金等工业活动产生的“三废”排放，导致大量 Cd 进入自然环境，大面积土壤被污染，形势十分严峻（Hawrylak et al.，2014；Reiser et al.，2014；陈永勤等，2015）。Cd 具有的毒性大、

---

基金项目：国家自然科学基金项目（31560161，31260089，31640012）[Supported by the National Natural Science Foundation of China (31560161，31260089，31640012)]。

作者简介：闫志强（1991 年生），男，河南登封人，硕士研究生，研究方向为重金属污染植物修复研究（E-mail）914224613@qq.com。

*通信作者：陈银萍，女，博士，教授，主要从事环境污染植物修复研究，（E-mail）yinpch@mail.lzjtu.cn。

容易转移、降解困难且分解周期极长等特点，在农业生产中被农作物吸收后，除了会破坏植物的生理活动，导致其产量和质量低下外，还会被人摄取危害健康（李婧等，2015；申强等，2015）。所以，Cd 污染土壤的修复已成为土壤学、生态学和环境科学等学科的研究热点和难点。

利用超富集植物吸附重金属的特性修复 Cd 污染土壤的方法，由于其操作简单便捷、费用少、环境友好、且可大规模实施等优点而日益受到世界研究者的重视（马彩云等，2013）。然而在自然界中具有超富集特性的植物类别很少，多数生长慢、产量低，而且只在少数地区分布。因此，从超富集植物资源中筛选生长迅速且产量高的植物成为植物修复技术的一条新思路。紫花苜蓿（*Medicago sativa* L.）是全球范围内普遍种植的草本植物，其生长快、适应能力好、根系发达、枝叶繁多、生物学产量高，在牧草业被认为是牧草之最（徐苏凌等，2008；陈银萍等，2015）。已有报道显示土壤中 Cu、Zn 等重金属可以被紫花苜蓿吸收富集（蘧苗苗等，2016；王文星等，2006；代惠萍等，2014）。目前，关于紫花苜蓿的报道多数集中在对盐和干旱胁迫的响应（李文娆等，2010；张立全等，2012）以及重金属胁迫下种子萌发与幼苗生长及生理特性（曹婷和代惠萍，2014；蘧苗苗等，2016）等方面，而紫花苜蓿对重金属 Cd 富集特性和 Cd 污染土壤修复的研究则比较缺乏。

Cd 胁迫能引起植株的生理生化产生一系列的变化。长期 Cd 胁迫会导致细胞内活性氧（ROS）累积，进一步引起氧化胁迫，使植物根系活力下降，植物生长受抑制，叶绿素分解，植物叶片发黄干枯等（Smeets et al.，2005；王松华等，2011；尹国丽等，2013）。而抗氧化系统可以调节细胞内的 ROS 水平，减少对植物造成的损害（Francisco & Joséluis，2011；江玲等，2014）。以紫花苜蓿幼苗为材料，本研究分析了不同浓度 Cd 胁迫下紫花苜蓿幼苗的生物量、光合色素、膜脂过氧化、抗氧化及 Cd 累积特性，探究紫花苜蓿在镉胁迫下的生长情况以及对 Cd 的积累，以期为阐明紫花苜蓿受镉毒害的机制与修复镉污染土壤给出指导。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料和试剂

以“甘农三号”（Gannong NO.3）紫花苜蓿作为试验材料，选购于甘肃农科院。Cd 胁迫用 5/2 水合氯化镉（国药试剂），其它试剂均为国产分析纯。

## 1.2 实验方法

挑选大小均一的紫花苜蓿种子，为提高其发芽率，将种子置于温蒸馏水（50~60℃）中 0.5 h。种子取出晾干后播种在含有 1/2 浓度 Hoagland’s 营养液的生长介质中，于室内培养架中发芽生长，共 24 盆，定期更换生长介质。培养 30 d 左右，待幼苗长出约 3 片叶时，挑选大小相似的 21 盆，分成 7 组，Cd 胁迫试剂为 $CdCl_2$，Cd 浓度梯度为 0（CK）、0.125、0.25、0.5、1.0、1.5 和 2.0 $mmol \cdot L^{-1}$，继续水培 3 d 后（水培体积为 500 mL），分别对根、茎和叶进行混合取样，鲜样测定叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素（Car）、丙二醛（MDA）含量及过氧化物酶（POD）、超氧化物歧化酶（SOD）活性和 Cd 的亚细胞分布。水培 10 d 后进行终期采样，测量根长和茎长，根、茎和叶的鲜重及干重，测定重金属 Cd 含量。

## 1.3 测定方法

### 1.3.1 生理生化指标

采用硫代巴比妥酸法（赵世杰等，2002）测定 MDA 含量；丙酮提取法（张志良和翟伟菁，2004）测定叶绿素含量；氮蓝四唑（NBT）还原法（李合生，2000）测定 SOD 活性；愈创木酚显色法（李合生，2000）测定 POD 活性。

### 1.3.2 重金属 Cd 含量测定

分别对根、茎和叶进行混合取样，粉碎过 0.425 mm 筛。称取样品 2.0 g 放入消解管中，浓硝酸和高氯酸分别添加 20 mL 和 4 mL，然后低温热销解。当溶液到 4 mL 左右时，添加 10 mL 超纯水，继续消解 13 min 左右，转移至 25 mL 容量瓶中，冷却至室温，以 0. 2%的硝

酸定容，使用原子吸收分光光度计（美 220FS）分析其中 Cd 含量（鲍士旦，2007），并计算 Cd 转运速率、吸收速率和单株地上部对 Cd 的净化率（冉烈等，2012）。

Cd 转运速率=单株地上部富集 Cd 量/根系干重/10d；

Cd 吸收速率=单株富集 Cd 量/根系干重/10d；

10 d 内单株地上部对 Cd 的净化率=单株地上部富集 Cd 的量/水中全 Cd 量×100

10 d 内整盆植株在单位体积内对 Cd 的净化率=整盆植株富集 Cd 的量/水中全 Cd 量/水培体积×100，其中，水中全 Cd 量=水培盆中水的体积×Cd 浓度。

1.3.3 Cd 的亚细胞分布

取嫩叶 1 g，置于 10 mL 预冷的匀浆液中研磨匀浆。匀浆液组成为：250 mmol·L$^{-1}$ 蔗糖，50 mmol·L$^{-1}$ Tris-HCl (pH 7.4)，1 mmol·L$^{-1}$ 二硫赤藓糖醇（$C_4H_{10}O_2S_2$）。匀浆后，进行差速离心，依次为 600 r·min$^{-1}$ 下 10 min 沉淀为细胞壁，1000 r·min$^{-1}$ 下 15 min 沉淀为叶绿体以及 10000 r·min$^{-1}$ 下 20 min 沉淀为线粒体，上层溶液为胞质组分（含液泡，核糖等），每次离心重复进行 3 次（汤惠华等，2008）。

1.4 数据处理

采用 EXCEL 进行数据处理，计算均值，方差等和制图。用 SPSS 22.0 进行组间单因素方差分析，多重比较采用 Duncan 法（α=0.05）。

## 2 结果与分析

2.1 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗根长、茎长和生物量的影响

紫花苜蓿幼苗根长和茎长随着 Cd 浓度的增大均先增加后减小。0.125 mmol·L$^{-1}$ Cd 处理使茎长和根长显著增加（$P$<0.05），与 CK 相比分别增加了 7.35%和 11.00%。随着 Cd 浓度的进一步增大，茎长和根长依次减小，2.0 mmol·L$^{-1}$ Cd 处理分别比 CK 减少了 47.47%和 58.18%（$P$<0.05）（图 1：A）。Cd 胁迫下紫花苜蓿幼苗的干重与 CK 相比无显著差异，但 Cd 胁迫使幼苗的鲜重和含水量显著降低（$P$<0.05），降低幅度随 Cd 胁迫浓度的加大而增大。2.0 mmol·L$^{-1}$ Cd 处理后的幼苗鲜重和含水量分别比 CK 下降 59.91%和 24.1%（图 1B）。

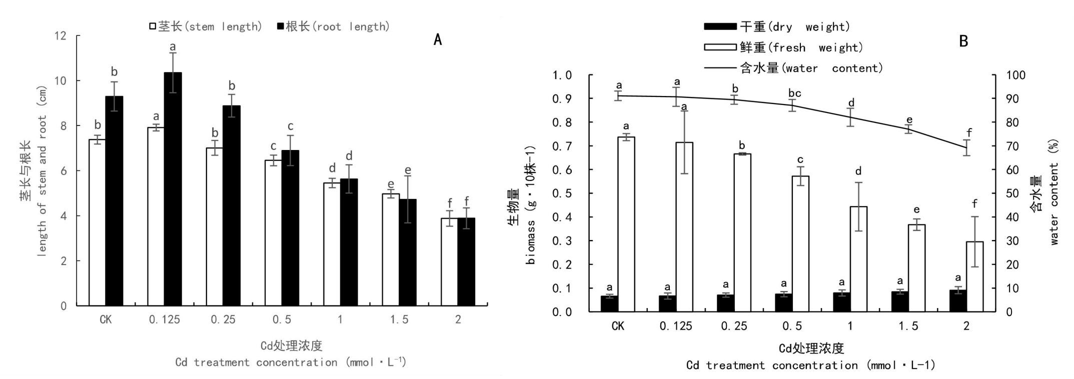



图 1 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗茎长、根长（A）、生物量和含水量（B）的影响

不同小写字母表示差异显著（$P$<0.05），下同。

Fig.1 Effects of Cd stress on the length of stem and root (A), and biomass and water content (B) of alfalfa seedlings (mean ± SE)

Different small letters mean significant differences ($P$ <0.05). The same below.

2.2 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗叶片中叶绿素与类胡萝卜素含量的影响

Cd 浓度为 0.125 mmol·L$^{-1}$ 时，紫花苜蓿幼苗叶中叶绿素 a、b 和 Car 含量与 CK 相比无显著差异（$P$>0.05），而随着 Cd 处理浓度增加，叶绿素 a、b 和 Car 含量明显下降，其中在 Cd 浓度为 2.0 mmol·L$^{-1}$ 降至最低，分别仅为 CK 的 47.01%、72.27%和 51.28%（$P$<0.05）。叶绿素 a/b 值随 Cd 处理浓度的增加持续下降（表 1）。

### 2.3 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗 MDA 含量与抗氧化酶的影响

紫花苜蓿幼苗体内的 MDA 含量经不同浓度 Cd 处理后显著提高（$P$<0.05），其中，在 Cd 处理浓度为 0.125 mmol·L$^{-1}$ 时，根中的 MDA 含量高于茎和叶。另外，根和茎中 MDA 的含量在 Cd 处理浓度为 1.5 mmol·L$^{-1}$ 时达到最大值，与 CK 相比分别增加了 117.06%和 318.35%（$P$<0.05）。而 2.0 mmol·L$^{-1}$Cd 处理使叶中 MDA 含量达到最大值，较 CK 增加了 732.57%（$P$<0.05），增幅明显比根和茎高（图 2）。

表 1 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗叶片叶绿素与类胡萝卜素含量的影响

Table 1 Effects of Cd stress on the Chlorophyll and Carotenoid content in leaves of alfalfa seedlings

| Cd 处理浓度 Cd concentration（mmol·L$^{-1}$） | 叶绿素 a Chlorophyll a（mg·g$^{-1}$ FW） | 叶绿素 b Chlorophyll b（mg·g$^{-1}$ FW） | 类胡萝卜素 Carotenoid（mg·g$^{-1}$ FW） | 叶绿素 a/b Chlorophyll a/b |
|---|---|---|---|---|
| CK | 1.820±0.02$^{a}$ | 0.699±0.09$^{a}$ | 0.399±0.02$^{ab}$ | 2.602±0.03$^{a}$ |
| 0.125 | 1.826±0.04$^{a}$ | 0.745±0.02$^{a}$ | 0.433±0.01$^{a}$ | 2.451±0.09$^{b}$ |
| 0.25 | 1.700±0.07$^{b}$ | 0.694±0.03$^{b}$ | 0.356±0.01$^{b}$ | 2.448±0.01$^{bc}$ |
| 0.5 | 1.681±0.04$^{b}$ | 0.688±0.04$^{ab}$ | 0.352±0.03$^{b}$ | 2.443±0.08$^{bc}$ |
| 1.0 | 1.380±0.08$^{c}$ | 0.617±0.04$^{c}$ | 0.269±0.02$^{c}$ | 2.238±0.01 $^{c}$ |
| 1.5 | 1.290±0.04$^{d}$ | 0.606±0.02$^{c}$ | 0.241±0.01$^{cd}$ | 2.127±0.06$^{cd}$ |
| 2.0 | 1.071±0.05$^{e}$ | 0.510±0.02$^{d}$ | 0.220±0.02$^{d}$ | 2.099±0.04 $^{d}$ |

注：同列不同小写字母表示差异显著（$P$<0.05），下同。

Note: Different small letters in each column mean significant differences($P$<0.05). The same below.

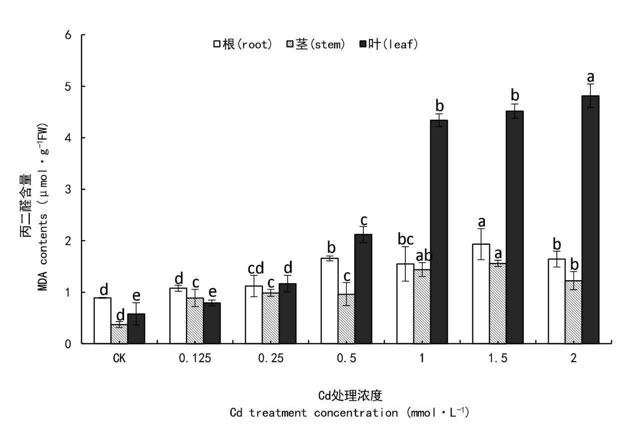
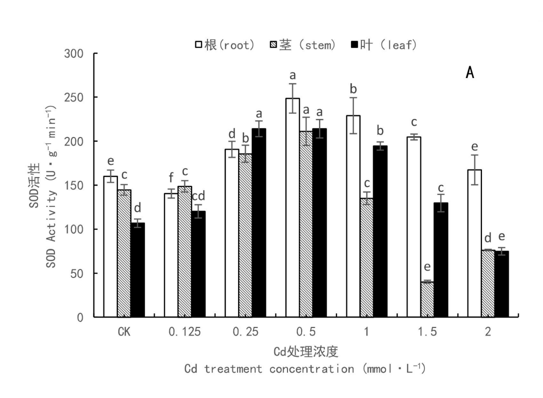



图 2 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗 MDA 含量的影响

Fig.2 Effects of Cd stress on MDA content in alfalfa seedlings

随着 Cd 处理浓度的增大，紫花苜蓿根、茎和叶中 SOD 活性总体呈现先增强后减弱的趋势。其中，当 Cd 处理浓度为 0.125 mmol·L$^{-1}$ 时，茎中的 SOD 活性略大于根和叶中，但相较于 CK，根中 SOD 活性显著降低（$P$<0.05），而茎和叶中的 SOD 活性则略微升高（$P$>0.05）。而 Cd 处理浓度为 0.5 mmol·L$^{-1}$ 时根和茎中 SOD 活性达最强，Cd 处理为 0.25 mmol·L$^{-1}$ 时叶中 SOD 活性达最强，与 CK 相比分别增强了 55.27%、45.90%、100.28%（$P$<0.05）；而 Cd 处理为 2.0 mmol·L$^{-1}$ 时，茎、叶中 SOD 活性被显著抑制（$P$<0.05），根中则与 CK 大致持平（$P$>0.05）(图 3A)。紫花苜蓿幼苗根、茎和叶中 POD 的活性在 Cd 处理浓度为 0.125 mmol·L$^{-1}$ 时均显著高于 CK，其中根中的 POD 活性显著高于茎和叶中的活性（$P$<0.05）。继续增加 Cd 处理浓度，POD 变化趋势与 SOD 大致相似，0.5、1.0、0.25 mmol·L$^{-1}$ Cd 处理分别使根、茎、叶中 POD 达最强，对比 CK 分别增强了 71.75%、96.60%、54.13%（$P$<0.05）；而随着 Cd 浓度进一步增大，根、茎和叶中 POD 活性虽较最大值有所减少，但仍显著高于 CK（$P$<0.05）（图 3B）。



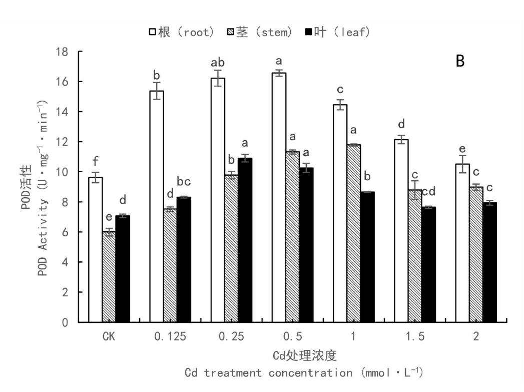



图 3 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗 SOD（A）和 POD（B）的影响

Fig.3 Effects of Cd stress on activities of SOD (A) and POD (B) in alfalfa seedlings

## 2.4 Cd 在紫花苜蓿幼苗叶片内的亚细胞分布

紫花苜蓿叶片亚细胞组分内 Cd 的含量大小不一，而细胞壁内的 Cd 含量最高，占总量的 53.71%~61.85%；其次为细胞质，占总量的 19.51%~31.68%；再次是线粒体，占总量的 8.85%~17.07%；而叶绿体中 Cd 含量较少，仅占总量的 2.44%~7.87%。叶片各亚细胞组分 Cd 含量随 Cd 浓度升高而显著增加（$P<0.05$）。对比 CK，叶片内的全 Cd 量增加了 43.17 倍，而细胞壁、叶绿体、线粒体、细胞质中 Cd 含量与 CK 相比最大增加的倍数分别为 38.03、100.52、22.75、69.97（$P<0.05$）（表 2）。

表 2 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗叶片亚细胞 Cd 含量及其分配率的影响

Table 2 Contents and distribution percent of Cd in subcellular fractions from leaves of Alfalfa seedlings under Cd stress

| Cd 处理浓度 Cd concentration (mmol·L⁻¹) | 细胞壁 Cell wall (μg·g⁻¹ FW) | 叶绿体 Chlorplast (μg·g⁻¹ FW) | 线粒体 Mitochondria (μg·g⁻¹ FW) | 细胞质 Cytoplasm (μg·g⁻¹ FW) | 总量 Total (μg·g⁻¹ FW) |
|---|---|---|---|---|---|
| CK | 0.833±0.03$^{g}$ (60.98） | 0.033±0.06$^{d}$ (2.44） | 0.233±0.02$^{d}$ (17.07) | 0.267±0.03$^{g}$ (19.51) | 1.366±0.05$^{f}$ (100.00) |
| 0.125 | 2.883±0.20$^{f}$ (56.72) | 0.401±0.04$^{cd}$ (7.87) | 0.450±0.02$^{d}$ (8.85) | 1.345±0.15$^{f}$ (26.56) | 5.078±0.70$^{e}$ (100.00) |
| 0.25 | 9.375±0.21$^{e}$ (61.85) | 0.833±0.03$^{c}$ (5.50) | 1.902±0.08$^{c}$ (12.53) | 3.050±0.13$^{e}$ (20.12) | 14.344±2.24$^{d}$ (100.00) |
| 0.5 | 13.450±1.83$^{d}$ (59.38) | 1.400±0.26$^{b}$ (6.18) | 2.967±0.45$^{b}$ (13.10) | 4.833±0.40$^{d}$ (21.34) | 22.650±2.08$^{c}$ (100.00) |
| 1.0 | 21.378±0.73$^{c}$ (57.85) | 1.717±0.45$^{b}$ (4.65) | 4.783±0.56$^{a}$ (12.95) | 9.075±0.23$^{c}$ (24.55) | 36.953±1.09$^{b}$ (100.00) |
| 1.5 | 27.383±0.72$^{b}$ (55.90) | 2.650±0.39$^{a}$ (5.41) | 4.975±0.50$^{a}$ (10.16) | 13.975±1.70$^{b}$ (28.53) | 50.425±3.11$^{a}$ (100.00) |
| 2.0 | 31.675±3.19$^{a}$ (53.71) | 3.317±0.10$^{a}$ (5.62) | 5.300±0.79$^{a}$ (8.99) | 18.683±0.49$^{a}$ (31.68) | 58.975±3.57$^{a}$ (100.00) |

注：表中括号内数据为分配率（%）

Note: The data in parentheses in the table is the percent distribution.

## 2.5 紫花苜蓿幼苗对 Cd 的积累和转运

不同浓度 Cd 处理后，紫花苜蓿地上部（茎、叶）与地下部（根）均在不同程度上积累了 Cd。随着 Cd 处理浓度的增大，其积累量显著增加（$P<0.05$）。当 Cd 处理浓度为 2.0 mmol·L$^{-1}$ 时，紫花苜蓿积累 Cd 量达最高，而随着 Cd 处理浓度的增加，10 d 内单株地上部对 Cd 的净化率及整盆植株在单位体积内对 Cd 的净化率则依次降低，其中浓度为 0.125 mmol·L$^{-1}$ 的 Cd 处理时净化率最高，相当于平均每株从水中带走的 Cd 占水中全 Cd 含量的 0.214%，每盆中全部植株从单位体积的 Cd 溶液中吸收的 Cd 占水中全 Cd 含量的 15.5%。而紫花苜蓿体内 Cd 的吸收速率和转运速率则随着 Cd 处理浓度的增大呈现依次增高的趋势，在 Cd 处理浓度为 2.0 mmol·L$^{-1}$ 时达最高值，分别为 8.774 和 16.190 μmol·g$^{-1}$·d$^{-1}$（表 3）。

表 3 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗富集 Cd 的影响

Table 3 Effect of Cd stress on Cd accumulation in alfalfa seedlings

| Cd 处理浓度 Cd concentration (mmol·L$^{-1}$) | 单株富集 Cd 量 Individual accumulation of Cd(μg·plant$^{-1}$) | | | 10 d 内单株地上部对 Cd 的净化率 Purification rate of Cd in individual aboveground part within 10 days ( %) | 10 d 内整盆植株在单位体积内对 Cd 的净化率 Purification of rate of Cd in whole pot plant per unit volume within 10 days ( %) | Cd 吸收速率 Cd absorption rate (μmol Cd·g$^{-1}$·d$^{-1}$ root DW) | Cd 转运速率 Cd transport rate (μmol Cd·g$^{-1}$·d$^{-1}$ root DW) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 地上部 Aboveground part | 地下部 Belowground part | 总计 Total | | | | |
| CK | 0.640±0.12$^{g}$ | 3.475±0.15$^{f}$ | 4.115±0.41$^{g}$ | — | — | 0.085±0.02$^{f}$ | 0.548±0.02$^{e}$ |
| 0.125 | 15.300±2.01$^{f}$ | 40.120±1.29$^{e}$ | 55.420±2.22$^{f}$ | 0.214±0.03$^{a}$ | 15.500±0. 35$^{a}$ | 2.049±0.26$^{e}$ | 7.262±0.01$^{d}$ |
| 0.25 | 24.510±0.81$^{e}$ | 61.840±1.17$^{d}$ | 86.350±9.58$^{e}$ | 0.171±0.01$^{b}$ | 12.076±0. 72$^{b}$ | 3.474±0.10$^{d}$ | 10.736±0.08$^{c}$ |
| 0.5 | 46.250±0.54$^{d}$ | 67.830±2.88$^{c}$ | 114.080±4.35$^{d}$ | 0.162±0.00$^{b}$ | 7.977±0.21$^{b}$ | 5.448±0.06$^{c}$ | 13.438±0.06$^{b}$ |
| 1.0 | 57.400±1.41$^{c}$ | 72.930±3.32$^{b}$ | 130.330±6.42$^{c}$ | 0.100±0.00$^{c}$ | 4.557±0.13$^{c}$ | 6.295±0.16$^{c}$ | 14.293±0.04$^{b}$ |
| 1.5 | 73.960±5.02$^{b}$ | 77.980±8.55$^{ab}$ | 151.935±19.42$^{b}$ | 0.086±0.01$^{c}$ | 3.541±0.24$^{c}$ | 7.659±0.52$^{b}$ | 15.734±0.03$^{a}$ |
| 2.0 | 89.360±7.91$^{a}$ | 79.380±10.74$^{a}$ | 168.740±12.25$^{a}$ | 0.078±0.01$^{c}$ | 2.950±0. 12$^{c}$ | 8.774±0.76$^{a}$ | 16.190±0.01$^{a}$ |

## 3 讨论与结论

重金属的积累会影响植物的正常生理过程，抑制植株生长，使生物量降低（徐苏凌等，2008）。一般认为，低浓度 Cd 能刺激种子萌发及幼苗生长而较高浓度的 Cd 则对其有抑制的效应（张春容等，2004）。本研究中，0.125 mmol·L$^{-1}$ Cd 处理使茎长和根长显著增加，而随着 Cd 浓度的进一步增大，茎长和根长依次减小，导致植株明显低矮。同时，Cd 胁迫下植株幼苗的干重与 CK 无显著差异，而鲜重和含水量随 Cd 浓度增大而显著降低，其中 2.0 mmol·L$^{-1}$ Cd 处理使植株鲜重和含水量降至最低。由于植物体内的绝大多数代谢活动都是在水介质中进行的，而且水分也是某些植物代谢过程中重要的反应物质，所以含水量减少影响了紫花苜蓿幼苗正常的生理代谢，导致幼苗干枯。这与前人（Adamakis et al.，2014）研究结果相同，进一步证明植物过量吸收 Cd 会影响其正常的生长发育。

光合作用是植物转化光能为化学能的基础生理活动，叶绿素作为光合作用的关键色素，其含量多少标志着植物生长能力的强弱（汤惠华等，2008）。本研究中，紫花苜蓿幼苗叶片中叶绿素含量与其根长、茎长的变化趋势相似，低浓度 Cd 处理使叶中叶绿素 a、b 和 Car 含量较 CK 均有所增加，但继续升高 Cd 的浓度时，Chla、b 和 Car 的含量则显著减少，这与汤惠华等（2008）的研究结果一致。Cd 被植物吸收固定时引起 ROS 大量积累（生吉萍等，2009），ROS 能抑制与叶绿素和 Car 合成相关酶的活性以及加速叶绿素和 Car 的降解，从而使叶绿素与 Car 含量降低。叶绿素 a、b 都能够捕获和传递光能，但只有少数特殊状态下的叶绿素 a 具有将光能转变为化学能的功能（孙小玲等，2010），本研究中 Cd 处理使叶绿素 a/b 值降低，说明 Cd 对叶绿素 a 的影响大于叶绿素 b，本实验在光照充足的条件下进行，叶绿素 a 含量的变化更能影响紫花苜蓿的光合作用。Car 行使光能捕获和光破坏防御功能（孙小玲等，2010），Cd 胁迫下 Car 含量降低，导致紫花苜蓿幼苗捕获光能不足而影响光合效率，抵御光氧化伤害的能力减弱而损伤光合机构（Demmig-Adams & Adams，2000；Matsubara et al. ，2008），这进一步说明 Cd 胁迫能导致紫花苜蓿幼苗光合作用减弱并抑制其生长。

与项目组前期研究结果一致（蘧苗苗等，2016），本研究中，紫花苜蓿根、茎、叶中 MDA 含量均随 Cd 浓度的升高而增加，且显著高于 CK，而其抗氧化酶系统中的 SOD 与 POD 活性则整体呈现先升高再随 Cd 处理浓度增大而降低的趋势。其中，在低浓度 Cd 胁迫（0.125 mmol·L$^{-1}$）下，根中 MDA 显著高于茎和叶，说明直接接触 Cd 胁迫的根组织与茎和叶相比，细胞膜受损更严重；根中的 SOD 活性则显著低于 CK，茎和叶中的 SOD 活性与 CK 无显著差异，说明低浓度 Cd 胁迫抑制了根中 SOD 的活性，而根、茎、叶中 POD 的活性均显著高于 CK，说明紫花苜蓿在受到低浓度 Cd 胁迫时，POD 能被激活以及时清除 ROS；根中的 POD 活性显著高于茎和叶中的活性，说明低浓度 Cd 胁迫下与 Cd 直接接触的根部组织中 POD 活性变化更为迅速和激烈。在高浓度（1.5~2.0 mmol·L$^{-1}$）Cd 胁迫下，根中 POD 和 SOD

活性虽较最大值有所下降，但仍显著高于 CK，特别是根中的 SOD 被显著激活，协同 POD 清除根中 ROS，减轻高浓度 Cd 造成的膜脂过氧化损伤，相应的根中 MDA 含量则显著下降，说明植物抵抗 Cd 胁迫过程中抗氧化酶系统的各种酶是相互协调配合起作用，而不只是由于某个酶的活性变化就可以起到抗氧化效果（高福元等，2010）；虽然茎中 SOD 活性低于根和叶，但 POD 活性居中，可以清除部分 ROS，而且，由于茎中的细胞壁果胶和半纤维含量较高，使 Cd 沉积在细胞壁中解毒，大大缓解了 Cd 对茎的毒害作用，从而使 MDA 含量低于根和叶（周翠等，2017）；而叶中 MDA 含量显著高于根和茎，导致膜的损伤和破坏，造成叶片内重要的活性氧清除酶 SOD 和 POD 活性降低，特别是 POD 活性，表明高度积累的 MDA 对于 SOD 和 POD 的活性起抑制作用（朱涵毅等，2013）。说明 Cd 在同一植株的不同部位导致膜脂过氧化程度不同，而且抗氧化酶在同一植株不同部位以及不同浓度 Cd 胁迫下被激活的速度与程度也有差别，这种差异可能与植物的器官及酶的种类有关（尹国丽等，2013）。

植物可通过调整 Cd 在亚细胞组分中的分配实现对 Cd 毒害的适应（汤惠华等，2008）。本研究中，Cd 在各组分中的含量分配排序为细胞壁>细胞质>线粒体>叶绿体。这与前人的（Wang et al.，2008）研究结果一致。表明 Cd 大部分分布于细胞壁中，细胞壁中的多糖分子和蛋白质分子能结合 $Cd^{2+}$，使 Cd 沉淀在细胞壁中，阻挡一些 Cd 进入细胞内部，从而降低 Cd 对植物造成的毒害（Kupper et al.，2000；李红婷和董然，2015）。高浓度 Cd 胁迫下叶绿体和细胞质内的 Cd 含量分配增加，细胞壁和线粒体内的 Cd 含量分配减少。说明此时细胞壁对 Cd 的滞留作用减弱，更多的 Cd 进入细胞内部并产生影响，本实验中，叶片各亚细胞组分 Cd 含量随着 Cd 浓度的升高均显著增加，而与 CK 比较，叶绿体增加的倍数最大（100.52 倍）。作为植物细胞内双层膜结构的关键细胞器，叶绿体和线粒体代谢活跃，功能性强，特别是对于叶绿体来说，Cd 含量的激增能破坏类囊体，甚至于破坏双层膜结构导致叶绿体基质外流和解体（吴建慧等，2016），且光合作用相关的色素位于类囊体膜的蛋白质复合体中（孙小玲等. 2010），所以，过量的 Cd 进入叶绿体中会对其结构和功能产生严重的破坏作用。与此同时，如前所述，Cd 胁迫下大量积累的 ROS 使叶绿素和 Car 合成酶活性受到抑制，叶绿素和 Car 的降解加速，导致叶绿素与 Car 含量降低，这进一步加深了 Cd 对紫花苜蓿幼苗的毒害作用。有研究表明（Allan & Jarrell，1989）当细胞壁对 Cd 的贮藏能力达到饱和时，Cd 会被转运到细胞质中，而细胞壁与细胞质是细胞中代谢不活跃区域，且细胞质内的部分小分子化合物能结合 Cd 形成沉淀，对 Cd 具有一定的耐受性。因此，尽管 Cd 在叶绿体中的含量很少，但对比 CK 却是成倍激增，相比细胞中的其他组分受到的损伤却是最严重的。

紫花苜蓿地上部和地下部的 Cd 含量、Cd 的吸收和转运速率伴随 Cd 胁迫浓度的增加均显著升高，表明在本研究的浓度梯度内，紫花苜蓿吸附积累 Cd 离子的量随着胁迫浓度增大而逐渐增加，对 Cd 的吸收及转运速率也持续增大，过量 Cd 积累导致植株进一步受到损伤。而低浓度下，地下部的 Cd 含量始终高于地上部的，这是由于根部最先接触 Cd 胁迫，交换吸附的量比较多，而这与 Kupper 等（2000）的研究结果一致；而只有少量的 Cd 离子经过根部后运输到了茎和叶，故紫花苜蓿地上部的 Cd 含量相对较低。在 1.0 $mmol \cdot L^{-1}$ Cd 胁迫之后，地下部的 Cd 离子的吸附量已近饱和，植株对 Cd 的吸收及转运速率趋于平缓，紫花苜蓿幼苗出现叶片枯黄萎缩的现象，部分幼苗已接近死亡，说明此时紫花苜蓿吸收及转运 Cd 离子的量已经接近极限，严重影响了紫花苜蓿体内各种生理代谢。Baker & Brooks（1989）认为地上部对 Cd 富集达 100 $\mu g \cdot g^{-1}$ 为 Cd 超富集植物的临界标准含量，另外还需具备较好的生长抗性。在本研究中，当 Cd 处理浓度为 2.0 $mmol \cdot L^{-1}$ 时，紫花苜蓿幼苗地上部 Cd 含量达 89.36 $\mu g \cdot g^{-1}$；Cd 处理浓度为 0.125 $mmol \cdot L^{-1}$ 时，10 d 内紫花苜蓿幼苗单株地上部对 Cd 的净化率最高，达到 0.214%。本研究中，培养 10 d 的紫花苜蓿虽未达到 Cd 超富集植物的临界标准，但紫花苜蓿对 Cd 的富集量为 89.36 $\mu g \cdot g^{-1}$，与相关研究中培养 105 d 的苦草（*Vallisneria natans*）对 Cd 的富集量为 90 $mg \cdot kg^{-1}$（乔云蕾等，2016）相似；单株地上部对 Cd 的最大净化率为 0.214%，与芥菜型油菜（*Brassica juncea*）培养 30 d 对 Cr 的净化率为 0.23%（王爱云等， 2011）及培养 66 d 对 Zn 和 Cd 的净化率分别为 0.29%和 0.13% (蒋先军等，2002）相似。因此，从植株富集 Cd 量，耐 Cd 程度及对 Cd 的净化率等方面对比考虑，紫花苜蓿在 Cd 污染土壤的植物修复中具有一定的应用价值。

参考文献：

ADAMAKIS ID，PANTERIS E，ELEFTHERIOU EP，2014．Tungsten disrupts root growth in Arabidopsis thaliana by PIN targeting［J］．J Plant Physiol，171(13)：1174-1187．

ALLAN DL，JARRELL WM，1989. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls ［J］．Plant Physiol，89(3)：823-832．

BAKER AJM，BROOKS RR，1989．Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements：a review of their distribution，ecology and phytochemistry［J］．Biorecovery，1：811-826．

BAO SD，2007．Soil analysis in agricultural chemistry［M］．Beijing：China Agricultural Press，263-278，394-398．［鲍士旦，2007．土壤农化分析［M］．北京：中国农业出版社：263-278，394-398．］

CAO T，DAI HP，2014．Biochemical characteristics of different alfalfa leaves under Zinc stress ［J］．Hubei Agric Sci，53(10)：2365-2367．［曹婷，代惠萍，2014．锌胁迫对 4 种紫花苜蓿叶片生理特性的影响［J］．湖北农业科学，53(10)：2365-2367．］

CHEN YP，QU MM，SU XN，et al．2015．Effects of exogenous nitric oxide on active oxygen metabolism and cadmium accumulation in alfalfa seedlings under cadmium stress［J］．J Agro-Environ Sci，34(12)：2261-2271．［陈银萍，蘧苗苗，苏向楠，等，2015．外源一氧化氮对镉胁迫下紫花苜蓿幼苗活性氧代谢和镉积累的影响［J］．农业环境科学学报，34(12)：2261-2271．］

CHEN YQ，JIANG L，XU WH，et al．2015．Effect of ryegrass and arbuscular mycorrhizal on Cd absorption by varieties of tomatoes and cadmium forms in soil［J］．J Environ Sci，36(12)：4642-4650．［陈永勤，江玲，徐卫红，等，2015．黑麦草、丛枝菌根对番茄 Cd 吸收、土壤 Cd 形态的影响［J］．环境科学，36(12)：4642-4650．］

DAI HJ，ZHAO H，LI JC，et al．2014．Effects of Zn on the physiological and biochemical characteristics and accumulation abilities of *Medikago sativa* L．［J］．North Hortic，(10)：50-53．［代惠萍，赵桦，李军超，等，2014．锌对紫花苜蓿生理生化特性的影响及积累能力研究［J］．北方园艺，(10)：50-53．］

DEMMIG-ADAMS B，ADAMS WW III，2000．Harvesting sunlight safely［J］．Nature，403：371-374．

FRANCISCO SERRANO-MARTÍNEZ，JOSÉ LUIS CASAS，2011．Effects of extended exposure to cadmium and subsequent recovery period on growth，antioxidant status and polyamine pattern in in vitro cultured carnation［J］．Physiol Mol Biol Plants，17(4)：327-338．

GAO FY，ZHANG JL，LIU ZP，2010．Studies of effects of color-leafed plants on SOD，POD activity of her cold-resistance in winter［J］．Chin Agric Sci Bull，26(5)：169-173．［高福元，张吉立，刘振平，2010．冬季低温对 4 种彩叶植物 SOD、POD 活性影响的研究［J］．中国农学通报，26(5)：169-173．］

HAWRYLAK-NOWAK B，DRESLER S，WÓJCIK M，et al. 2014. Selenium affects physiological parameters and phytochelatins accumulation in cucumber ( *Cucumis sativus* L． ) plants grown under cadmium exposure［J］．Sci Hortic，172：10-18．

JIANG L，YANG Y，XU WH，et al．2014．Effects of ryegrass and arbuscular mycorrhiza on activities of antioxidant enzymes，accumulation and chemical forms of cadmium in different varieties of tomato［J］．J Environ Sci，35(6)：2349-2357．［江玲，杨芸，徐卫红，等，2014．黑麦草-丛枝菌根对不同番茄品种抗氧化酶活性、镉积累及化学形态的影响［J］．环境科学，35(6)：2349-2357．］

JIANG XJ，LUO YM，ZHAO QG，2002. Study on phytoremediation of heavy metal polluted soils Ⅲ. cadmium and zinc uptake and accumulation by indian mustard[J]．Acta Pedol Sin，39(5)：664-670．［蒋先军，骆永明，赵其国．重金属污染土壤的植物修复研究 Ⅲ.金属富集植物 *Brassica juncea* 对锌镉的吸收和积累[J]．土壤学报，2002，39(5)：664-670．］

KUPPER H，LOMBI E，ZHAO FJ，et al．2000．Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator Arabidopsis halleri［J］．Planta，212(l)：

75-84.
LI HS，2000．Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment［M］. Beijing：Higher Education Press，164-167.［李合生，2000. 植物生理生化实验原理和技术［M］. 北京：高等教育出版社：164-167.］
LI HT，DONG R，2015．Pb & Cd absorption and accumulation characteristics，subcellular distribution and chemical forms in two types of Hemerocallis plants［J］. J South China Agric Univ，36(4)：59-64.［李红婷，董然，2015. 2 种萱草对铅、镉的吸收累积及其在亚细胞的分布和化学形态特征［J］. 华南农业大学学报，36(4)：59-64.］
LI J，ZHOU YW，CHEN S，et al. 2015. Actualities，damage and management of soil cadmium pollution in China［J］. Anhui Agri Sci Bull，21(24)：104-107.［李婧，周艳文，陈森，等，2015. 我国土壤镉污染现状、危害及其治理方法综述[J]. 安徽农学通报，21(24)：104-107.］
LI WR，ZHANG SQ，DING SY，et al. 2010. Root morphological variation and water use in alfalfa under drought stress［J］. Acta Ecol Sin，30(19)：5140-5150.［李文娆，张岁岐，丁圣彦，等，2010. 干旱胁迫下紫花苜蓿根系形态变化及与水分利用的关系［J］. 生态学报，30(19)：5140-5150.］
MA CY，CAI DJ，YAN H，et al．2013．Soil Cd pollution and research progress of treatment techniques［J］. Henan Chem Ind，30(17)：17-22.［马彩云，蔡定建，严宏，等，2013. 土壤镉污染及其治理技术研究进展［J］. 河南化工，30(17)：17-22.］
Matsubara S，Krause GH，Seltmann M，et al．2008．Lutein epoxide cycle，light harvesting and photoprotection in species of the tropical tree genus Inga［J］. Plant Cell Environ，31：548-561.
QU MM，CHEN YP，SU XN，et al．2016．Effects of endogenous NO and ROS generation in alfalfa under Cd Stress［J］. Guihaia，36(12)：1483-1491.［蘧苗苗，陈银萍，苏向楠等，2016. 镉胁迫下紫花苜蓿幼苗内源一氧化氮和活性氧的生成［J］. 广西植物，36(12)：1483-1491.］
QIAO YL，LI MH，XIE PJ，et al．2016．A study on the absorption of cadmium and zinc in the water sediments with submerged plants[J]．J Zhejiang Univ(Science Edition) 43(5):601-609．[乔云蕾，李铭红，谢佩君等．沉水植物对受重金属镉、锌污染的水体底泥的修复效果[J]．浙江大学学报(理学版)，2016，43(5)：601-609．]
REISER S，SIMMLER M，PORTMANN D，et al. 2014. Cadmium concentrations in New Zealand Pastures：relationships to soil and climate variables［J］. J Environ Qual，43( 3)：917-925.
RAN L，LI HH，TIAN XY，2012．Effects of exogenous nitric oxide on growth and cadmium accumulation in *Sedum alfredii* Hance under Cd stress［J］. Chin Agric Sci Bull，28(19)：60-64．[冉烈，李会合，田秀英，2012．外源 NO 对镉胁迫下东南景天生长和镉累积的影响［J］. 中国农学通报，28(19)：60-64．]
SHEN Q，WU J，ZHOU J，et al. 2015. Review on plant cadmium (Cd) resistance［J］. Shanghai Arid Sci and Tech，(2)：30-33.［申强，吴军，周军，等，2015. 植物对重金属镉(Cd)抗性的研究综述［J］. 上海农业科技，(2)：30-33.］
SHENG JP，LIU KL，SHEN L，2009．Effects of exogenous nitric oxide on chlorophyll in cadmium-induced tomato seedlings［J］. Spectrosc Spect Anal，29(3)：762-764.［生吉萍，刘开朗，申琳，2009. 外源一氧化氮对镉胁迫下番茄幼苗叶绿体保护作用的光谱学分析［J］. 光谱学与光谱分析，29(3)：762-764.］
SMEETS K，CUYPERS A，LAMBRECHTS A，et al．2005．Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application［J］. Plant Physiol Biochem，43：437-444.
SUN XL，XU YF，MA LY，et al．2010．A review of acclimation of photosynthetic pigment composition in plant leaves to shade environment［J］. Chin J Plant Ecol，34(8)：989-999．[孙小玲，许岳飞，马鲁沂，等，2010．植株叶片的光合色素构成对遮阴的响应［J］. 植物生态学报，34(8)：989-999．]
TANG HH，YANG T，HU HY，et al．2008．Effects of cadmium and its subcellular distribution on the photosynthesis of cauliflower［J］. Acta Hortic Sin，35 (9)：1291-1296.［汤惠华，杨涛，胡宏友，等，2008. 镉对花椰菜光合作用的影响及其在亚细胞中的分布［J］. 园艺学

报，35 (9)：1291-1296. ]
WANG AY，ZHONG GF，XU GB，et al．2011．Effects of Cr (Ⅵ) Stress on physiological characteristics of *Brassica juncea* and its Cr uptake[J]．J Environ Sci，32(6)：1717-1725．[王爱云，钟国锋，徐刚标，等．铬胁迫对芥菜型油菜生理特性和铬富集的影响[J]．环境科学，2011，32(6)：1717-1725．]
WANG SH，ZHANG H，HE QY，2011. Effects of copper stress on *Medicago sativa* seedlings leaf antioxidative system［J］．Chin J Appl Ecol，22(9)：2285-2290.［王松华，张华，何庆元，2011．铜胁迫对紫花苜蓿幼苗叶片抗氧化系统的影响［J］．应用生态学报，22(9)：2285-2290.］
WANG WX，CAO CY，CUI ZB，et al. 2006. Copper enrichment from contaminated soil by alfalfa and its physiological response[J]. J Northeast Univ (Natural Science) ，27(10)：1161-1164.［王文星，曹成有，崔振波，等，2006．紫花苜蓿对土壤中铜的富集效应及其生理响应［J］．东北大学学报(自然科学版)，27(10)：1161-1164.］
WANG X，LIU Y，ZENG G，et al. 2008. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Beehineria nivea* L［J］．Environ Exp Bot，62(3)：389-395.
WU JH，LIU JX，ZHANG J，et al．2016．The response of *Potentilla Sericea* ultrastructure and physiological characteristics to cadmium stress［J］．Acta Agrestia Sin，24(6)：1278-1282. [吴建慧，刘俊学，张静，等，2016．绢毛委陵菜叶片超微结构及生理特性对镉的响应［J］．草地学报，24(6)：1278-1282．]
XU SL，FANG Y，XING CH，et al．2008．Effect of cadmium stress on growth and nodulation in alfalfa［J］．Acta Agric Univ Jiangxiensis，30(6)：1049-1053.［徐苏凌，方勇，邢承华，等，2008. 镉胁迫对紫花苜蓿生长及结瘤的影响[J]. 江西农业大学学报，30(6)：1049-1053.］
YIN GL，SHI SL，KOU JT，et al．2013．Seed germination and physiological and biochemical characteristics of alfalfa under cadmium stress［J］．Acta Bot Boreali-Occident Sin，33(8)：1638-1644.［尹国丽，师尚礼，寇江涛，等，2013．Cd 胁迫对紫花苜蓿种子发芽及幼苗生理生化特性的影响［J］．西北植物学报，33(8)：1638-1644.］
ZHANG CR，XIA LJ，DU XG，2004. Effect of Cadmium Germination of *Medicago Sativa* Seeds［J］．Chin Agric Sci Bull ，20 (5)：253-255.［张春容，夏立江，杜相革，2004．镉对紫花苜蓿种子萌发的影响［J］．中国农学通报，20 (5)：253-255.］
ZHANG LQ，ZHANG FY，HA S，et al. 2012. Research progress on alfalfa salt tolerance[J]. Acta Pratacult Sin，21(6)：296-305.［张立全，张凤英，哈斯，等，2012．紫花苜蓿耐盐性研究进展［J］．草业学报，21(6)：296-305.］
ZHANG ZL，ZHAI WJ．2004．Experimental guide for plant physiology［M］．Beijing： Higher Education Press，67-70.［张志良，翟伟菁，2004．植物生理学实验指导［M］．北京：高等教育出版社：67-70.］
ZHAO SJ，SHI GA，DONG XC，2002．Experimental guide for plant physiology［M］．Beijing：China Agricultural Science and Technology Press：142-143.［赵世杰，史国安，董新纯，2002．植物生理学实验指导［M］．北京：中国农业科学技术出版社：142-143.］
ZHOU C，CHEN JP，WANG T，et al．2017．Effect of flooding on cadmium content in different cell wall components of the root and stem of *Salix variegate* Franch［J］．J Agro-Environ Sci，36(12)：2421-2428.［周翠，陈锦平，王婷，等，2017．水淹对秋华柳根茎细胞壁组分镉含量的影响［J］．农业环境科学学报，36(12)：2421-2428.］
ZHU HY，CHEN YJ，LAO JL，et al．2013．The effect of exogenous nitric oxide on activities of antioxidant enzymes and microelements accumulation of two rice genotypes seedlings under cadmium stress［J］．Acta Ecol Sin，2013，33(2)：0603-0609.［朱涵毅，陈益军，劳佳丽，等，2013．外源 NO 对镉胁迫下水稻幼苗抗氧化系统和微量元素积累的影响［J］．生态学报，2013，33(2)：0603-0609.］